

Rec'd PCT/PTO 28 APR 2005

Mod. G.E. - 1-4-7

MODULARIO  
L. 104 - 101



PCT/EP03/11913

**Ministero delle Attività Produttive**  
*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*  
*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*  
*Ufficio G2*

REC'D 21 JAN 2004

WIPO PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

N. **MI2002 A 002306**



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

oma, il **12 NOV. 2003**

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

per IL DIRIGENTE

*Dr.ssa Paola Giuliano*  
**Dr.ssa Paola Giuliano**

**BEST AVAILABLE COPY**

## AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

## A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione **FRUCTAMINE S.p.A.**  
 Residenza **Mozzo (Bergamo)** codice **023346801**

2) Denominazione \_\_\_\_\_  
 Residenza \_\_\_\_\_ codice \_\_\_\_\_

## B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome **Bianchetti Giuseppe ed altri** cod. fiscale \_\_\_\_\_  
 denominazione studio di appartenenza **Bianchetti Bracco Minoja s.r.l.**  
 via **Rossini** n. **8** città **Milano** cap **20122** (prov) **MI**

## C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via \_\_\_\_\_ n. \_\_\_\_\_ città \_\_\_\_\_ cap \_\_\_\_\_ (prov) \_\_\_\_\_

## D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) \_\_\_\_\_ gruppo/sottogruppo \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**"Guanosine modificate ad attività aromatizzante"**

## ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

N° PROTOCOLLO \_\_\_\_\_

## E. INVENTORI DESIGNATI

1) **Furiosi Carola** cognome nome  
 2) **Zoia Andrea** cognome nome  
 3) **Gizzoni Claudio** cognome nome  
 4) **Colombo Enrico** cognome nome

## F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

SCIoglimento RISERVE

Data N° Protocollo

1) \_\_\_\_\_  
 2) \_\_\_\_\_

## G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

## H. ANNOTAZIONI SPECIALI

## DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es. **18**

Doc. 1) **PROV** n. pag. **18** riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) ...

Doc. 2) **PROV** n. tav. \_\_\_\_\_ disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) ...

Doc. 3) **RIS** lettera d'incarico, procura o intermento procura generale \_\_\_\_\_

Doc. 4) **RIS** designazione inventore \_\_\_\_\_

Doc. 5) **RIS** documenti di priorità con traduzione in italiano \_\_\_\_\_

Doc. 6) **RIS** autorizzazione o atto di cessione \_\_\_\_\_

Doc. 7) **RIS** nominativo completo del richiedente \_\_\_\_\_

8) attestati di versamento, totale Euro

**Centottantotto/51#**

COMPILATO IL

**30/10/2002**

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

**Bianchetti Giuseppe**

obbligatorio

CONTINUA SI/NO

**NO**

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO

**SI**

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI **MILANO**

**MILANO**

codice **15**

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

**MI2002A 002306**

Reg. A.

L'anno

**DUEMILADUE**

il giorno

**10**

del mese di

**OTTOBRE**

Il(i) richiedente(i) sopralindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda \_\_\_\_\_ fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

**IL RAPPRESENTANTE PUR INFORMATO DEL CONTENUTO**

**DELLA CIRCOLARE N. 423 DEL 03/09/2001**

**EFFETTUA IL DEPOSITO CON RISERVA**

**DI LETTERA DI INCARICO.**

IL DEPOSITANTE

dell'Ufficio

L'UFFICIALE ROGANTE

**M. CORTONESE**

**REG. A**

**DATA DI DEPOSITO**

30 10 2002

NUMERO BREVETTO

**DATA DI RILASCIO**

11/11/11

**D. TITOLU**

**"Guanosine modificate ad attività aromatizzante"**

## L. RIASSUNTO

$$\left[ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{N} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array} \right] \begin{array}{c} \text{N} \\ \parallel \\ \text{C}=\text{O} \\ \parallel \\ \text{NH} \\ \parallel \\ \text{N} \\ \parallel \\ \text{NH}-\text{CH}_2-\text{R} \end{array} \quad \left. \right]^{2-} \quad x\text{M}^{+}$$

(1)

in cui R, M, x ed n assumono i significati indicati nella descrizione, utilizzati come agenti aromatizzanti o esaltatori di sapidità in prodotti alimentari.

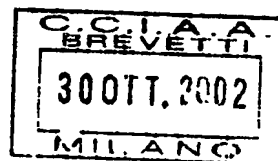
## M. DISEGNO



**'M/mc    "GUANOSINE MODIFICATE AD ATTIVITÀ AROMATIZZANTE"**

MI 2002 A 0 0 2 3 0 6

con sede in : Mozzo (Bergamo)



\* \* \*

La presente invenzione si riferisce ad agenti aromatizzanti o esaltatori di sapidità, in particolare a derivati della guanosina-5'-monofosfato (d'ora in poi 5'-GMP).

Oggetto della presente invenzione sono i composti di formula generale

$$\left[ \begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{O}-\text{P}-\text{O} \\ | \\ \text{O} \end{array} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{C} \quad \text{N} \\ / \quad \backslash \\ \text{OH} \quad \text{OH} \end{array} \right]^{2-} \quad xM^{n+}$$

(I)

- un alchile C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, eventualmente sostituito con un gruppo S-R<sup>1</sup>, in cui R<sup>1</sup> rappresenta un alchile C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- un gruppo fenile, benzile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito con uno o più gruppi -NO<sub>2</sub>, -CHO, -R<sup>1</sup> o -SR<sup>1</sup>, in cui R<sup>1</sup> ha il significato precedentemente definito;
- M rappresenta idrogeno, un metallo alcalino o alcalino terroso;

- X è uguale a 1 per n uguale a 2 e X è uguale a 2 per n uguale a 1.

I composti di formula (I) sono particolarmente utili come additivi nella preparazione di alimenti in cui ribonucleotidi 5'-monofosfato vengono utilizzati insieme a glutammato monosodico.

L'invenzione riguarda pertanto anche additivi esaltatori di sapidità comprendenti un composto di formula I in miscela con monosodio glutammato e/o con ribonucleotidi 5'-monofosfati.

### **SFONDO DELL'INVENZIONE**

Con il termine di "Flavor enhancer" si indicano sostanze non necessariamente dotate di gusto proprio ma che, aggiunte a cibi o ad aromi, ne migliorano le caratteristiche organolettiche, aumentandone la sapidità (savory flavor), conferendo "senso di pienezza" (richness), nota carnea (meatiness) e arrotondamento al gusto (continuity, mouthfeel). Tale proprietà viene associata ad un vero e proprio gusto, il cosiddetto quinto gusto, definito dai Giapponesi "gusto UMAMI".

Largamente utilizzato come esaltatore di sapidità è il glutammato monosodico (d'ora in poi MSG), che tuttavia è responsabile, in una certa categoria di consumatori, di una serie di effetti collaterali comunemente noti come "sindrome da ristorante cinese".

Detti effetti collaterali possono essere in parte ridotti associando al MSG ribonucleotidi 5'-monofosfato, quali inosina 5'-monofosfato e guanosina 5'-monofosfato (d'ora in poi IMP e GMP rispettivamente).

Ribonucleotidi modificati con attività superiore rispetto a IMP e GMP consentirebbero di diminuire ulteriormente il dosaggio di MSG sia nei cibi che negli aromi e di ridurre ulteriormente gli effetti collaterali.

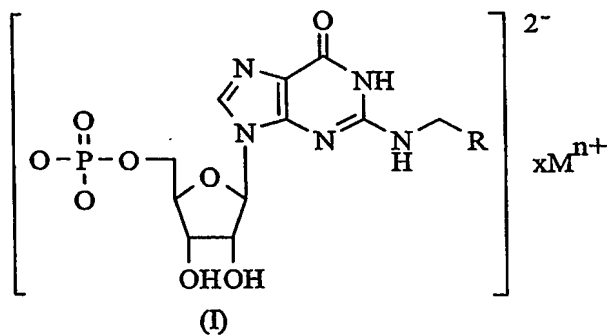
In Yamazaki et al, *Chem. Pharm. Bull.*, 1968, 16, 338-344 si descrive la sintesi di 2-alciltioinosine 5'-monofosfato e di N<sup>2</sup>-metil- e N<sup>2</sup>,N<sup>2</sup>-dimetilguanosina 5'-monofosfato, mentre in K. Imai, *Chem. Pharm. Bull.*, 1971, 19, 576-586 è descritta la sintesi di 2-tio- e 2-arilinosine 5'-monofosfato.

In *Communications*, 80, 1025-1028, 1980, Keemal e Breeze descrivono un metodo generale per la sintesi di N<sup>2</sup>-alchil nucleosidi e riportano la preparazione della N<sup>2</sup>-metil-guanosina. Si è ora trovato che una classe di N<sup>2</sup>-alchil guanosine sono dotate di vantaggiose proprietà aromatizzanti, che consentono di limitare la dose, e quindi gli effetti collaterali, del MSG negli alimenti e negli aromi.

### DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Oggetto della presente invenzione sono composti di formula generale

(I)



in cui R rappresenta:

- un alchile C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, eventualmente sostituito con un gruppo S-R<sup>1</sup>, in cui R<sup>1</sup> rappresenta un alchile C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- un gruppo fenile, benzile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito da 1-5 sostituenti, preferibilmente da 1 a 3 sostituenti, uguali o diversi, scelti fra gruppi -NO<sub>2</sub>, -CHO, -R<sup>1</sup> o -SR<sup>1</sup>, in cui R<sup>1</sup> ha il

significato precedentemente definito;

- M rappresenta idrogeno, un metallo alcalino o alcalino terroso;
- X è uguale a 1 per n uguale a 2 e X è uguale a 2 per n uguale a 1.

Un gruppo alchile  $C_1-C_4$  è scelto fra metile, etile, propile, isopropile, n-butile, sec-butile e ter-butile ed è preferibilmente metile o etile.

Un primo gruppo preferito di composti di formula (I) è quello in cui R rappresenta un alchile lineare  $C_1-C_3$ , eventualmente sostituito con un gruppo  $S-R^1$ , in cui  $R^1$  corrisponde a metile.

Un secondo gruppo preferito di composti di formula (I) è quello in cui R rappresenta un gruppo fenile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito con un gruppo  $-NO_2$ , metile o  $-SR^1$ , in cui  $R^1$  ha il significato precedentemente definito.

Un terzo gruppo preferito di composti di formula (I) è quello in cui M rappresenta idrogeno, sodio, potassio, calcio, magnesio o bario, più preferibilmente sodio.

Un quarto gruppo preferito di composti di formula (I) è quello in cui M rappresenta sodio, potassio, calcio, magnesio o bario e R rappresenta:

- un alchile lineare  $C_1-C_3$ , eventualmente sostituito con un gruppo  $S-R^1$ , in cui  $R^1$  corrisponde a metile;
- un gruppo fenile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito con un gruppo  $-NO_2$ , metile o  $-SR^1$ , in cui  $R^1$  ha il significato precedentemente definito.

Sono inoltre particolarmente preferiti i seguenti composti:

$N^2$ -3-(metiltio)-propil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(4-metiltiofenil)-metil guanosina-5'-monofosfato;



N<sup>2</sup>-(2-metiltiofenil)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(tiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(tiofen-3-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(5-metiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(3-metiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(5-etiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(5-nitrotiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;  
N<sup>2</sup>-(tianaften-3-il)-metil guanosina-5'-monofosfato  
e i corrispondenti sali di sodio.

Composto più particolarmente preferito è N<sup>2</sup>-(3-metiltio)-propil guanosina-5'-monofosfato e il corrispondente sale di sodio.

I composti di formula generale (I) possiedono un'attività di "flavor enhancers" uguale o superiore a quella di 5'-GMP. L'introduzione dei sostituenti indicati sulla base purinica determina un incremento che va da 2 a 20 volte e generalmente da 2 a 10 volte, rispetto a quello di 5'-IMP, comunemente utilizzato nelle valutazioni sensoriali come riferimento.

Costituisce ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso dei composti di formula generale (I), da soli o in associazione, come agenti aromatizzanti per aumentare la percezione di sapidità tipica dei prodotti contenenti glutammato monosodico e di derivati corrispondenti nei mammiferi e preferibilmente nell'uomo.

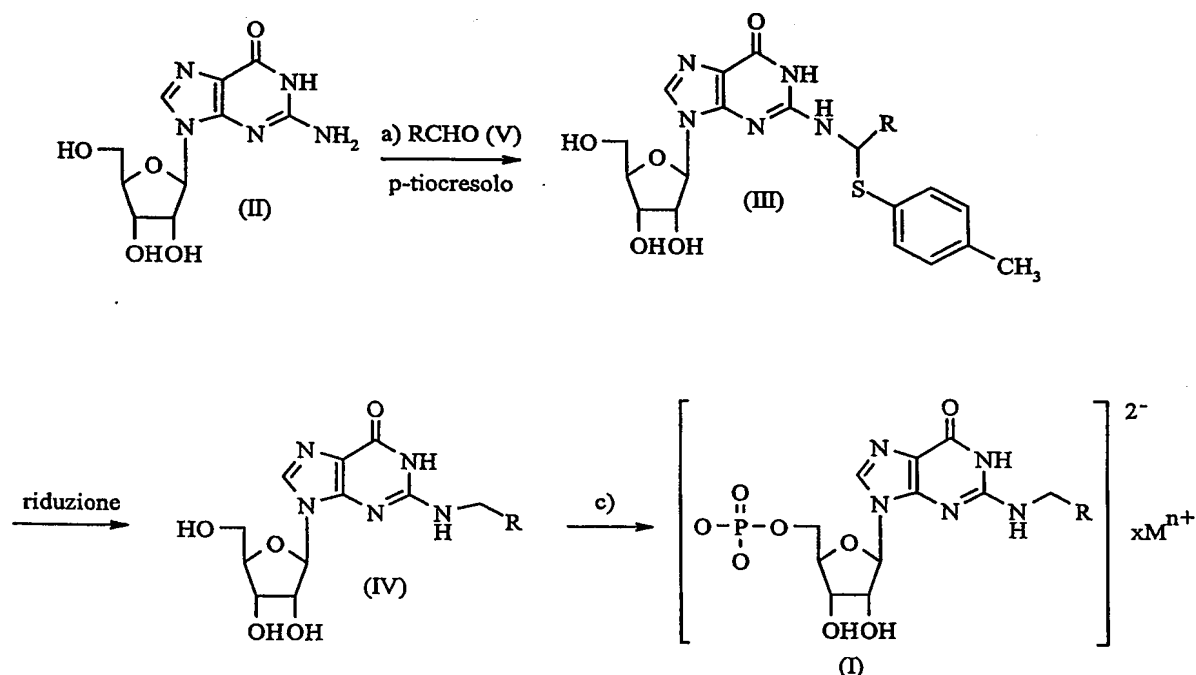
I composti di formula (I) precedentemente descritti possono pertanto trovare impiego nella preparazione di paste, risotti, minestre e creme dry, minestre e creme wet, snacks, salse, condimenti per insalata, sughi pronti rossi e bianchi, dadi, preparati per brodo, insaccati cotti (prosciutto, spalla,



ricostituiti, wurstel, etc.) e crudi (salami, salsicce, etc.), carni in scatola, paste ripiene e conserve vegetali, in particolare funghi.

I composti di formula generale (I) possono essere preparati con il processo descritto in Kemal O., Communications, 1980, vol. 80, pag. 1025-1028 (Schema), che consente di preparare ribonucleosidi purinici modificati selettivamente in posizione 2.

Schema



Il processo prevede la reazione iniziale fra aldeidi  $R-CHO$  (V), in cui R assume i significati precedentemente definiti, e guanosina (II), in presenza di almeno una mole di *p*-tiocrisolo, in condizioni di catalisi acida, preferibilmente da acido acetico e preferibilmente in mezzo acquoso, portando all'ottenimento dei composti intermedi di formula (III).

Aldeidi preferite secondo l'invenzione sono:

2-metiltiopropionaldeide;

4-metiltiobenzaldeide;  
2- metiltiobenzaldeide;  
2-tiofenecarbossaldeide;  
3- tiofenecarbossaldeide;  
5-metil-2-tiofenecarbossaldeide;  
3-metil-2-tiofenecarbossaldeide;  
5-etil-2-tiofenecarbossaldeide;  
5-nitro-2-tiofenecarbossaldeide;  
tianaftene-3-carbossaldeide.

Nel passaggio a) vengono generalmente utilizzate da 2 a 40 moli di aldeide di formula (V), da 3 a 10 moli di p-tiocresolo e una quantità di acido acetico compresa tra 2 e 15 moli.

La reazione viene condotta preferibilmente in soluzione acquosa, idroalcolica o alcolica utilizzando un alcol  $C_1-C_4$ , lineare o ramificato. La reazione avviene ad una temperatura generalmente compresa tra 20 e 80°C e si completa in un tempo compreso tra 2 e 24 ore.

I composti di formula (III) vengono generalmente isolati dalla miscela di reazione e purificati per cristallizzazione, utilizzando ad esempio etanolo acquoso.

Nel successivo passaggio b) il composto di formula (III) viene ridotto a dare il corrispondente derivato di formula (IV). La riduzione viene preferibilmente realizzata con sodioboroidruro in un solvente anidro e in condizioni analoghe a quelle descritte in letteratura. Preferibilmente vengono utilizzate da 1 a 3 moli di agente riducente per mole di (IV), ad una temperatura compresa tra 40 e 100°C; la reazione si completa generalmente in

un tempo compreso tra 2 e 4 ore.

Solventi preferiti sono 1,2-dimetossietano (glyme) e dimetilsolfossido.

La reazione di fosforilazione della N<sup>2</sup>-alchil guanosina (IV), (passaggio c), avviene secondo quanto descritto in K. Imai, *J. Org. Chem.*, 1968, Vol. 34, No. 6, pag. 1547-1550, utilizzando da 1 a 4 moli di agente fosforilante per mole di (IV) e ad una temperatura generalmente compresa tra i -10°C e gli 0°C. Preferibilmente si utilizza fosforil cloruro (POCl<sub>3</sub>) in presenza di trimetilfosfato. La reazione si completa in un tempo compreso tra 6 e 24 ore e il composto di formula (I) viene isolato dalla miscela, ad esempio per cristallizzazione da etanolo acquoso.

## PARTE SPERIMENTALE

### Proprietà organolettiche

Le proprietà organolettiche dei composti di formula (I) sono state valutate mediante test sensoriali, convocando un panel composto da 10 giudici assaggiatori formati al riconoscimento della nota UMAMI.

I derivati sono stati valutati in soluzione acquosa a pH neutro in sinergismo con il glutammato monosodico (MSG), impiegando come standard una soluzione acquosa a pH neutro contenente inosinato di sodio (5'-IMP) e MSG, in cui si è mantenuta fissa la concentrazione di MSG e si è variata la concentrazione di 5'-IMP, fino a raggiungere il punto di soggettiva uguaglianza con la soluzione di derivato da valutare.

I composti dell'invenzione sono utilizzabili come esaltatori di sapidità in prodotti salati in cui vengono normalmente utilizzati, in sinergia con il sale, il glutammato monosodico (MSG) e ribonucleotidi (5'-IMP e 5'-GMP) o da soli.



L'attività di flavor enhancing dei composti di formula (I) è risultata da 2 a 20 volte superiore a quella di 5'-IMP in sinergismo con MSG (soluzione di riferimento).

I valori soglia dei composti di formula (I) in soluzione acquosa a pH neutro, sono risultati variare in un intervallo compreso tra 0,02 e 0,006 g/100 mL.

Il dosaggio dei composti di formula (I) nel prodotto finito è compreso in un intervallo che va da 5 a 2500 ppm, qualora si utilizzino come flavor enhancers.

Ad esempio nel caso specifico dei dadi per brodo è previsto un dosaggio che va fino a 2500 ppm di composti di formula (I), mentre nel caso di utilizzo come aromatizzante generico il dosaggio è generalmente compreso tra 5 e 100 ppm su prodotto finito.

La qualità di gusto dei composti di formula (I) possiede svariate connotazioni. Le note variano da un gusto carneo, vegetale, tipo fungo, di spezie, di pomodoro, patata bollita, etc.

Si riportano alcune applicazioni in cui le proprietà organolettiche dei nuovi derivati ribonucleotidici solforati sono state valutate in prodotti finiti.

#### **Preparazione 1: dado per brodo**

La ricetta (tabella 1) prevede l'utilizzo di una miscela di 5'-IMP e 5'-GMP ed è stato valutato l'effetto della sostituzione del 5'-GMP con i nuovi derivati.

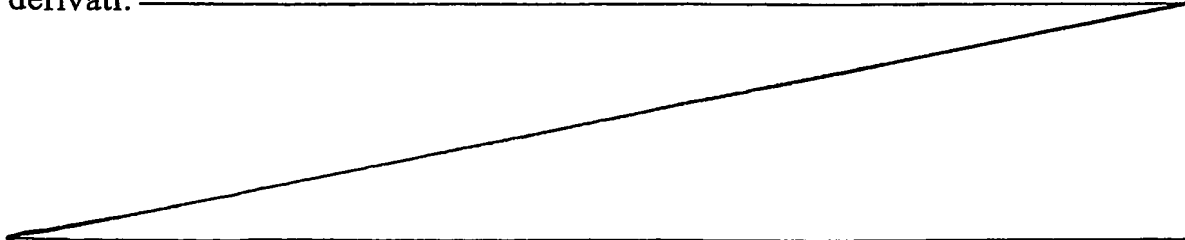


Tabella 1

INGREDIENTI	QUANTITÀ (g)
Sale	50
Glutammato di sodio (MSG)	20
Grassi	20
Ribonucleotidi (5'-GMP + 5'-IMP)	0,5
Estratto di carne	2
Estratto vegetale- Estratto lievito	6,5
Spezie e piante aromatiche	1
	100

Il confronto è stato compiuto assumendo come riferimento il prodotto finito secondo la ricetta indicata in tabella 1.

Il dado per brodo nella seconda formulazione, contenente i derivati guanosinici solforati, ha ottenuto punteggi da 2 a 5 volte superiori rispetto alla formulazione di riferimento.

Si riportano altri esempi in cui è stato valutato l'effetto dei derivati guanosinici modificati.

Sono stati scelti prodotti commerciali, che prevedono l'impiego di glutammato di sodio come esaltatore di sapidità. A questi prodotti è stata aggiunta una quantità nota di composto di formula (I) (0,01 g) e sono state compiute le valutazioni sensoriali, confrontando il prodotto originale con il prodotto addizionato del composto dell'invenzione.

**Preparazione 2: Preparato per riso in busta**

Tabella 2

INGREDIENTI	QUANTITA' (g)
Riso parboiled	84,32
Carciofo disidratato	7
Grassi	3
Glutammato di Na	2
Sale	1,5
Latte scremato polvere	1
Cipolla bianca polvere	0,5
Aromi	0,5
Spezie e piante aromatiche	0,18
	100

**Preparazione 3: Ripieno a base di carne per pasta fresca**

Tabella 3

INGREDIENTI	QUANTITA' (g)
Carne suina e bovina	45
Formaggio	20
pane grattugiato	18
mortadella	7
prosciutto crudo	4
siero di latte in polvere	2
aromi (*)	1,5
Sale	1,5
formaggio grana	1
	100

(\*) glutammato di sodio nel ripieno 0,4 % (stimato)

In tutti i casi i prodotti contenenti i composti dell'invenzione hanno ottenuto punteggi da 2 a 5 volte superiori rispetto al prodotto commerciale.

L'esempio che segue illustra la sintesi di un composto di formula (I).

**N<sup>2</sup>-3'-metiltiopropil guanosina-5'-monofosfato**

**Passaggio a): 2N-(p-toliltio-3'-metiltiopropil)-guanosina**

In un pallone a 2 colli da 250 mL, munito di ricadere e termometro e contenente 45 mL di isopropanolo vengono aggiunti sotto agitazione 3 g di guanosina (10,6 mmoli), 4 g di p-tiocresolo (32,2 mmoli), 12 mL di metionale (0,120 moli) e 6 mL di acido acetico e riscaldati a riflusso per 8-10 h.

Dopo 2 h si aggiungono nuovamente p-tiocresolo (4 g) e 12 mL di metionale. Il decorso della reazione viene seguito in TLC (eluente: acetato di etile/etanolo/acqua= 100:20:10).

Si lascia raffreddare la miscela e si evapora a pressione ridotta. Il residuo liquido viene lavato con etere ottenendo un solido gommoso giallo chiaro (4,7 g, 89,6%).

**Passaggio b): N<sup>2</sup>-3'-metiltiopropil guanosina**

In un pallone da 25 mL a 3 colli, munito di ricadere, termometro e tappo, contenente una soluzione di composto preparato come indicato nel passaggio a) (4,7 g, 9,5 mmoli) in 8 mL di DMSO si aggiungono, sotto agitazione, 470 mg (12,4 mmoli) di sodio boro idruro e si scalda a 100°C per 1,5 h. Si raffredda e si neutralizza con una soluzione 1 M di potassio diidrogeno fosfato. Il precipitato ottenuto viene raccolto su buchner e lavato prima con acqua/ghiaccio e poi con acetato di sodio.

Si ottengono 3,5 g (94%) di un prodotto solido giallo.



**Passaggio c) N<sup>2</sup>-(3-metiltio)propil guanosina-5'-monofosfato**

2 mL di fosforil cloruro sono miscelati a 13 mL di trimetil fosfato e raffreddati a -10°C in un pallone a 3 colli con valvola a calcio cloruro e termometro.

Alla soluzione vengono aggiunti, a piccole porzioni e sotto agitazione, 3,5 g (9,4 mmol) di composto preparato come descritto nel passaggio b), mantenendo la temperatura inferiore a -5°C. Dopo circa 30 minuti la soluzione diventa trasparente e viscosa.

La miscela viene agitata per circa 3 ore mantenendo la temperatura a -5°C. La reazione viene spenta versando la soluzione in 600 mL di acqua e ghiaccio, quindi si corregge il pH a 2 con soda 4 N. La soluzione viene passata su una colonna (diametro = 3 cm) di carbone animale attivato (60 g). Si lava con acqua distillata per eliminare i sali e si eluisce con la miscela etanolo/acqua/28% NH<sub>4</sub>OH: 50/48/2.

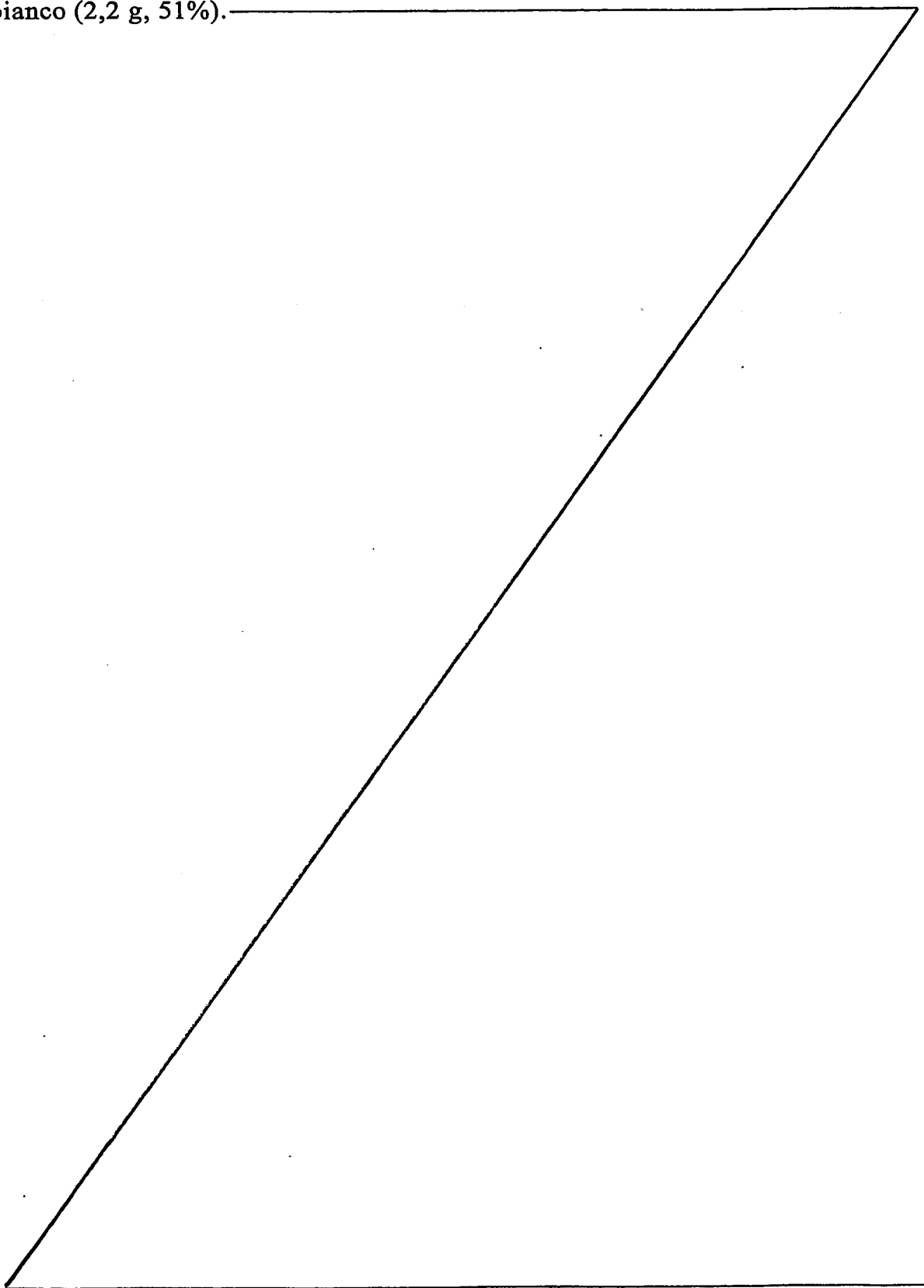
L'eluato viene portato a secco ed il residuo gommoso viene sciolto in 150 mL di acqua; si corregge il pH a 8,5 e alla soluzione si aggiungono sotto agitazione 100 mg di bario acetato sciolti in poca acqua.

Il precipitato viene rimosso per centrifugazione e alla soluzione risultante vengono aggiunti 4 g di bario acetato in 30 mL di acqua. Un'altra piccola porzione di precipitato è ottenuta per aggiunta di un volume di alcool etilico al filtrato. Il precipitato isolato per centrifugazione viene lavato con etanolo, acqua, etere.

Il sale di bario formatosi viene sospeso in 200 mL di acqua con 50 mL di resina Amberlite IR-120 (in forma Na<sup>+</sup>) e si agita fino a dissoluzione del sale. Si filtra la resina e la soluzione viene ridotta di volume fino a 20 mL. Per

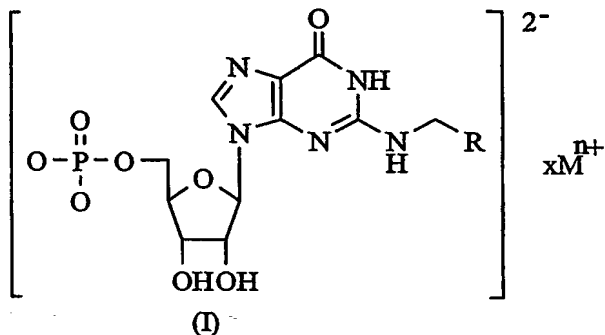


aggiunta di alcol etilico si osserva la formazione di un precipitato amorfo  
bianco (2,2 g, 51%).



# RIVENDICAZIONI

## 1. Composti di formula generale (I)



in cui R rappresenta:

- un alchile  $\text{C}_1\text{-C}_4$ , eventualmente sostituito con un gruppo  $\text{S-R}^1$ , in cui  $\text{R}^1$  rappresenta un alchile  $\text{C}_1\text{-C}_3$  ;
- un gruppo fenile, benzile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituiti da 1-5 gruppi  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CHO}$ ,  $-\text{R}^1$  o  $-\text{SR}^1$ , in cui  $\text{R}^1$  ha il significato precedentemente definito;
- M rappresenta idrogeno, un metallo alcalino o alcalino terroso;
- X è uguale a 1 per n uguale a 2 e X è uguale a 2 per n uguale a 1.

2. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui R rappresenta un alchile lineare  $\text{C}_1\text{-C}_3$ , eventualmente sostituito con un gruppo  $\text{S-R}^1$ , in cui  $\text{R}^1$  corrisponde a metile.

3. Composti secondo la rivendicazioni 1 in cui R rappresenta un gruppo fenile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito con un gruppo  $-\text{NO}_2$ , metile o  $-\text{SR}^1$ , in cui  $\text{R}^1$  è come definito nella rivendicazione 1.

4. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 - 3 in cui M rappresenta idrogeno, sodio, potassio, calcio, magnesio o bario.

5. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui M rappresenta idrogeno,

sodio, potassio, calcio, magnesio o bario e R rappresenta:

- alchile lineare  $C_1-C_3$ , eventualmente sostituito con un gruppo  $-SCH_3$  ;
- un gruppo fenile, tiofenile o benzotiofenile, eventualmente sostituito con un gruppo  $-NO_2$ , metile o  $-SCH_3$ .

6. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5 in cui M è idrogeno o sodio.

7. Un composto scelto fra:

$N^2$ -(3-metiltio)-propil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(4-metiltiofenil)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(2-metiltiofenil)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -tiofen-2-il-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -tiofen-3-il-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(5-metiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(3-metiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(3-etiltiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(3-nitrotiofen-2-il)-metil guanosina-5'-monofosfato;

$N^2$ -(tianaften-3-il)-metil guanosina-5'-monofosfato

e il corrispondente sale di sodio.

8.  $N^2$ -(3-metiltio)-propil guanosina-5'-monofosfato e il corrispondente sale di sodio.

9. Uso dei composti di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 8 come esaltatori di sapidità in preparazioni alimentari.

10. Uso dei composti di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 8, da soli o in associazione con glutammato monosodico o con nucleotidi 5'-monofosfato come esaltatori di sapidità in preparazioni alimentari.



11. Uso secondo la rivendicazione 9 o 10 per la preparazione di paste, risotti, minestre e creme secche (dry), minestre e creme umide (wet), snacks, salse, condimenti per insalata, sughi pronti rossi e bianchi, dadi, preparati per brodo, insaccati cotti e crudi, carni in scatola, paste ripiene e conserve vegetali.

12. Additivi esaltatori di sapidità comprendenti un composto delle rivendicazioni da 1 a 8 in miscela con monosodio glutammato e/o con nucleotidi 5'-monofosfati.

13. Preparazioni alimentari contenenti le composizioni della rivendicazione 12.

Milano, 30 ottobre 2002

Il Mandatario  
(Bianchetti Giuseppe)  
di Bianchetti Bracco Minoja S.r.l.

*G. Bianchetti*

